

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-071199

(43)Date of publication of application : 17.03.1998

51)Int.Cl.

A61L 27/00

A61F 2/10

21)Application number : 08-229890

(71)Applicant : GUNZE LTD

22)Date of filing : 30.08.1996

(72)Inventor : MORITA SHINICHIRO  
TAIRA TSUGUYOSHI  
IKADA YOSHITO  
MATSUDA KAZUYA

## 54) ANTIMICROBIAL AGENT-CONTAINING ARTIFICIAL SKIN

57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide artificial skin having a sufficient and long lasting antimicrobial effect by incorporating a crosslinking type collagen sponge layer deposited with sulfadiazine silver into this skin.

SOLUTION: A sulfadiazine silver suspension and chloroform are added to a soln. prepd. by diluting a collagen soln. with a dilute hydrochloric acid soln. and the mixture is stirred mechanically at a high speed by using a homogeneizer, by which the mixture is bubbled. This creamy soln. is then poured into a molding flask and is rapidly frozen at  $-40^{\circ}\text{C}$  and is thereafter subjected to vacuum freeze drying, by which the collagen sponge having a three-dimensional structure is obtd. This sponge is subjected to a vacuum drying treatment for 24 hours at  $105^{\circ}\text{C}$  and further, the sponge after the thermal dehydration treatment is immersed to glutaraldehyde for 24 hours at  $5^{\circ}\text{C}$  by which chemical crosslinking is introduced therein. The sponge is then washed by using distilled water in order to remove the glutaraldehyde and is rapidly frozen at  $-135^{\circ}\text{C}$  and, thereafter, the sponge is vacuum freeze dried, by which the collagen sponge matrix subjected to the thermal dehydration and chemical crosslinking production is obtd.

BEST AVAILABLE COPY

53

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-71199

(43) 公開日 平成10年(1998) 3月17日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 L 27/00			A 6 1 L 27/00	C
A 6 1 F 2/10			A 6 1 F 2/10	

審査請求 未請求 請求項の数3 O L (全 4 頁)

(21) 出願番号	特願平8-229890	(71) 出願人	000001339 グンゼ株式会社 京都府綾部市青野町膳所1番地
(22) 出願日	平成8年(1996) 8月30日	(72) 発明者	森田 真一郎 京都府綾部市井倉新町石風呂1番地 グン ゼ株式会社京都研究所内
		(72) 発明者	平 嗣良 京都府綾部市井倉新町石風呂1番地 グン ゼ株式会社京都研究所内
		(72) 発明者	筏 義人 京都府宇治市五ヶ庄広岡谷2番地182
		(74) 代理人	弁理士 三枝 英二 (外4名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗菌剤含有人工皮膚

(57) 【要約】

【課題】十分かつ持続的な抗菌作用を有する人工皮膚を提供する。

【解決手段】スルファジアジン銀を担持してなる架橋型コラーゲンスポンジ層を有する人工皮膚及びその製造法。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】スルファジアジン銀を担持してなる架橋型コラーゲンスポンジ層を含む人工皮膚。

【請求項2】スルファジアジン銀を担持してなる架橋型コラーゲンスポンジ層及び水分透過調節層を積層してなる請求項1記載の人工皮膚。

【請求項3】スルファジアジン銀を担持したコラーゲンスポンジにシリコン膜を積層し、化学架橋剤の溶液に浸漬して架橋を導入することを特徴とする人工皮膚の製造法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、抗菌性を有する人工皮膚並びにその製造法に関する。本発明の人工皮膚は、長期にわたる細菌増殖抑制効果を備えた人工皮膚として好適なものである。

## 【0002】

【従来の技術】コラーゲンは生体親和性がよく、加工性に優れることから従来より広範な医療用途、例えば溶液状で使用する充填剤、粉末状或いは綿状にした止血剤、不織布状にした創傷被覆材、スポンジ状に成型した人工皮膚などに利用されている。しかしながら、かかるコラーゲンは細菌に対する汚染、或いは、細菌の増殖性が極めて高いため、創をより悪化させたり、場合によってはコラーゲン自体を急速に溶解してしまう問題を生ずる。このため感染のおそれが高い創傷被覆材としての使用に際しては、予め抗生物質や抗菌剤溶液に浸した後、適用することが行われている。

【0003】例えば、特開平7-194687号公報は、プロテイン銀を担持したコラーゲンマトリクスを開示する。

【0004】しかし、プロテイン銀を担持したコラーゲンマトリクスは、インビトロでは抗菌効果が確認されているが、インビボでの抗菌効果は不十分であった。

## 【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、十分かつ持続的な抗菌作用を有する人工皮膚を提供することを目的とする。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】本発明は、スルファジアジン銀を担持してなる架橋型コラーゲンスポンジ層を含む人工皮膚に関する。

【0007】また、本発明は、スルファジアジン銀を担持してなる架橋型コラーゲンスポンジ層及び水分透過調節層を積層してなる人工皮膚に関する。

【0008】さらに、本発明は、スルファジアジン銀を担持したコラーゲンスポンジにシリコン膜を積層し、化学架橋剤の溶液に浸漬して架橋を導入することを特徴とする人工皮膚の製造法に関する。

## 【0009】

【発明の実施の形態】本発明で用いるコラーゲンは、ヒト、動物等の皮膚、腱等の任意の組織から得ることができ、その由来は限定されないが、特に医療材料としての用途を考慮した場合、抗原性を低下させる目的で末端のテロペプチドを酵素的に除去したアテロコラーゲンが好適に使用できる。

【0010】コラーゲンスポンジの製造は、公知の方法に従い、例えばコラーゲンの水溶液にクロロホルム等の有機溶媒を加え、ホモジナイザーで攪拌して泡立たせ、凍結乾燥することにより行うことができる。

【0011】スルファジアジン銀を担持したコラーゲンスポンジは、コラーゲン水溶液にスルファジアジン銀を加え、ホモジナイザーで攪拌して泡立たせ、凍結乾燥して製造することができる。得られたコラーゲンスポンジは、次に架橋導入される。

【0012】なお、コラーゲンスポンジをスルファジアジン銀の懸濁液に浸漬し、乾燥する方法では、スルファジアジン銀をコラーゲンスポンジに均一に担持させるのが困難である。

【0013】コラーゲンスポンジ層への架橋の導入は、グルタルアルデヒド、ヘキサメチレンジイソシアネート、カルボジイミド等の化学架橋剤により行うことができる。この化学架橋剤による方法に、熱脱水による架橋導入法を組み合わせてもよい。化学架橋剤を用いたコラーゲンスポンジへの架橋導入は、0.05～5重量%程度の架橋剤の溶液にコラーゲンスポンジを浸漬し、4～25℃程度で1～48時間程度反応させて行うことができる。熱脱水による架橋導入を行う場合には、減圧下にコラーゲンスポンジを60～150℃程度で1～48時間程度熱処理して熱脱水架橋を導入し、次いで化学架橋剤による架橋導入を行う。熱脱水のみにより架橋導入を行った場合には、コラーゲンスポンジはインビボで速やかに分解される。

【0014】スルファジアジン銀の配合量は、コラーゲンの0.1～20重量%程度である。

【0015】水分透過調節層は、シリコン膜が好適な例として挙げられる。水分透過調節層の厚みは、10～500μm程度、更に好ましくは10～150μm程度である。

【0016】例えばシリコン層は、下記のようにして架橋型コラーゲンスポンジに積層される。即ち、シリコンペーストをテフロンシート上に、アプリケーターを用いて均一に塗布し、シリコンペーストが硬化する前に熱脱水架橋を導入したコラーゲンスポンジを圧着し、乾燥してシリコンを硬化させ、架橋型コラーゲンスポンジにシリコン層を積層する。

## 【0017】

【発明の効果】本発明によれば、抗菌効果の持続性が高い人工皮膚を容易に得ることができる。

【0018】

【実施例】以下、本発明を、実施例に基づきより詳細に説明する。

#### 【0019】実施例1

<スルファジアジン銀含有コラーゲンマトリックスの調製>2%コラーゲン溶液を希塩酸溶液で希釈し、0.3重量% (pH3.0) の溶液とした。この溶液に、スルファジアジン銀懸濁液及びクロロホルムを加え、ホモジナイザーを用いて機械的に高速で攪拌し、泡立てた。スルファジアジン銀は、乾燥コラーゲン重量に対し各々1.0、3.0、5.0、10.0重量%となるように加え、濃度の異なる4種のサンプルとした。

【0020】次いで、得られたクリーム状の溶液を型枠に流し込み、-40℃で急速凍結後、真空凍結乾燥して3次元構造を有する4種のコラーゲンスポンジを得た。得られたコラーゲンスポンジに分子内架橋を導入する目的で105℃、24時間の真空熱乾燥処理を行った。さらに、熱脱水処理後のスポンジを0.2%濃度のグルタルアルデヒド(0.05N酢酸溶液)に5℃で24時間浸漬し、化学架橋を導入した。次いで、グルタルアルデヒド除去のために蒸留水を用いて洗浄し、-135℃で急速凍結後、真空凍結乾燥して熱脱水及び化学的架橋導

\*入された4種類のコラーゲンスポンジマトリックスを得た。

【0021】<ハローテスト>直径9cmのシャーレに作製した寒天培地に緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa* IFO 3452:10')を播種した後、直径1cmに打ち抜いた1.0、3.0、5.0、10.0重量%のスルファジアジン銀を含むコラーゲンマトリックスを置き、生理食塩水80μlを滴下した。このシャーレを37℃で1日間培養し、形成されたハロー(透明帯幅)を測定した後、寒天培地上のコラーゲンマトリックスを緑膿菌(10')を播種した寒天培地上に移し、37℃で1日間培養し、形成されたハローを測定した。

【0022】なお、ハローは、以下の式に従い算出した。

【0023】透明帯幅 = (試料幅(直径)と透明帯幅の総計 - 試料幅) / 2

培養日数1~4日の各スルファジアジン銀濃度のコラーゲンスポンジマトリックスを用いたハロー(透明帯幅)の測定結果を表1に示す。

【0024】

【表1】

培養日数	スルファジアジン銀濃度(%)			
	1.0	3.0	5.0	10.0
1	2.19	4.41	4.59	3.96
2	0	0	0.91	4.39
3	0	0	0.48	1.31
4	0	0	0	0

上記表1の結果から、スルファジアジン銀を含むコラーゲンスポンジマトリックスは、濃度依存性の抗菌効果を有することが明らかになった。

【0025】なお、架橋コラーゲンマトリックスにシリコーン膜を積層した場合にも同様な抗菌効果が得られる。

#### 【0026】実施例2

##### コラーゲンマトリックスとシリコーン膜の積層化

2%コラーゲン水溶液を希塩酸溶液で希釈し、0.3重量%(pH3.0)の溶液とした。この溶液にスルファジアジン銀懸濁液及びクロロホルムを加え、機械的に高速で攪拌し、泡立てた。なお、スルファジアジン銀は乾燥コラーゲン重量に換算し、1.0、3.0、5.0、10.0重量%となるように加え、濃度の異なる4区とした。

【0027】次いで、得られたクリーム状の溶液を型枠に流し込み、-40℃で急速凍結後、真空凍結乾燥し、3次元構造を有するコラーゲンスポンジ4区を得た。

【0028】一方、シリコーンをテフロンシート上にアプリケーションャーを用いて均一に塗布し、シリコーンが硬化する前に熱脱水架橋を導入したコラーゲンスポンジを圧着し、乾燥してシリコーンを硬化させた。テフロンシートからシリコーン膜を剥がして、コラーゲンスポンジ層と水分透過調節層であるシリコーン層を積層させた。

【0029】これを、0.2%濃度のグルタルアルデヒ

ド(0.05N酢酸)で5℃で24時間浸漬して化学架橋を導入した。次いで、グルタルアルデヒド除去のため蒸留水で架橋した積層体を洗浄し、-135℃で急速凍結後、真空凍結乾燥して架橋コラーゲンマトリックスとシリコーン膜層を有する人工皮膚を得た。

【0030】比較例1スルファジアジン銀に代えてプロテイン銀を用いた以外は実施例1と同様にして、プロテイン銀を0%、5%または10%含む架橋コラーゲンマトリックスを得た。

【0031】モルモットの背部皮膚に1.5×1.5cmの全層皮膚欠損を作製し、プロテイン銀を0%、5%または10%含む架橋コラーゲンマトリックスに緑膿菌をしみ込ませ、各々全層皮膚欠損創に縫合し、3日後に人工皮膚を切り取り、分離した緑膿菌の菌数を測定した。

【0032】結果を表2に示す。

【0033】

【表2】

プロテイン銀濃度	播種菌数	分離菌数
0%	10 <sup>5</sup>	1.1×10 <sup>5</sup>
5%	10 <sup>5</sup>	8.7×10 <sup>4</sup>
10%	10 <sup>5</sup>	7.4×10 <sup>4</sup>

上記のように、プロテイン銀は、10%の濃度であっても、インビボでは効果がないことが明らかである。

フロントページの続き

(72)発明者 松田 和也  
大阪府豊中市上野西1-2-14 玉置マン  
ション203号